

UJI ANTIINFLAMASI EKSTRAK METANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) PADA TIKUS PUTIH

ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *Piper crocatum* Ruiz & Pav. LEAVES METANOLIC EXTRACT IN RATS

Atik Fitriyani, Lina Winarti, Siti Muslichah dan Nuri

Fakultas Farmasi Universitas Jember

ABSTRACT

Inflamasi adalah respon alami yang terjadi pada kerusakan jaringan. Untuk menyembuhkan inflamasi orang biasa menggunakan AINS (antiinflamasi non steroid). Antiinflamsi nonsteroid (AINS) yang secara spesifik mempunyai sejarah yang panjang dan banyak menimbulkan kontroversi serta efek samping. Salah satu tanaman obat yang digunakan secara empirik untuk pengobatan secara tradisional adalah sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.). Tanaman ini memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat untuk antiinflamasi karena mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk meneliti efek antiinflamasi sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) menggunakan metode induksi karagenin pada tikus. Untuk pengukuran aktivitas antiinflamasi digunakan 5 kelompok yang berbeda, dan sirih merah diberikan dengan dosis 25mg/kgBB, 50mg/kgBB, dan 100mg/kgBB. Asetosal digunakan sebagai kontrol positif. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa reduksi inflamasi adalah 77.58% untuk asetosal, 72.3% untuk ekstrak 25mg/kgBB, 85.60% untuk ekstrak 50mg/kgBB, dan 81.02% untuk ekstrak 100mg/kgBB. Ekstrak dengan dosis 50mg/kgBB menunjukkan efek antiinflamasi yang paling besar diantara dosis yang digunakan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak sirih merah memberikan efek antiinflamasi yang menjanjikan.

Kata Kunci: ekstrak sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.), efek antiinflamasi, asetosal

ABSTRACT

Inflammation is a natural respon for tissue damage. To reduce inflammation, people used a NSAID (Non Steroid Antiinflammatory Drugs). This agent caused many side effects. One of medicinal plant empirically used for traditional medicine is *Piper Crocatum* Ruiz & Pav. This plant is potential to be developed as medicine for anti-inflammatory because its contains flavonoid, saponin, tannin, and alkaloid. The aim of this study was to investigate the anti-inflammatory effect of the *P.Crocatum* extract using carrageenan-induced rat oedema test. For the anti-inflammatory activity measurement, five different groups were established and piper extract was administered in three different doses : 25, 50 and 100 mg/kgBW. Acetosal was used as a reference agent. It was found that reduction in the flammation was 77.58% for acetosal, 72.37% for 25 mg/kg extract, 85.60% for 50mg/kg, and 81.02% mg/kg for 100mg/kg extract. Extract of *P. Crocatum* at 50 mg/kg showed the strongest anti-inflammatory activity among the doses used. The results showed that *P. Crocatum* extract posseses promising anti-inflammatory effect.

Key word : extract *P.Crocatum*, anti-inflammatory effect, Acetosal

PENDAHULUAN

Saat ini, popularitas terapi herbal mulai meningkat (Kamienski dan Keogh, 2006). Salah

satu tanaman obat yang secara empiris biasa digunakan sebagai obat tradisional adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). Tanaman ini lebih banyak dikenal sebagai tanaman hias dan tumbuh merambat dipagar atau pohon (Solikhah, 2007). Sirih merah berdasarkan kekerabatannya, satu genus dengan sirih (*Piper betle* Linn.). Selama ini penelitian yang telah dilakukan masih terbatas

Korespondensi : Lina Winarti
Alamat : Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jl. Kalimantan No. 37, Jember 68121
E-mail : Ilhinna_w@yahoo.com

pada sirih saja, yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dan imuno modulator (Sudipto et al., 2007). Menurut Solikhah (2007), secara empiris sirih merah digunakan sebagai obat kencing manis, ambeien, meredakan peradangan, kanker, asam urat, darah tinggi, hepatitis, kelelahan dan sakit maag.

Senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun sirih merah meliputi alkaloid, saponin, tannin, dan flavonoid (Puruhito dalam Sudewo, 2008). Flavonoid bekerja menghambat fase penting dalam biosintesis prostaglandin, yaitu pada lintasan siklooksigenase. Flavonoid juga menghambat fosfodiesterase, aldoreduktase, monoamine oksidase, protein kinase, DNA polymerase dan lipooksigenase (Robinson, 1995). Tanin diketahui mempunyai aktifitas antiinflamasi, astringen, antidiare, diuretik dan antiseptik (Khanbabaee dan Ree, 2001). Sedangkan aktivitas farmakologi saponin yang telah dilaporkan antara lain sebagai antiinflamasi, antibiotik, antifungi, antivirus, hepatoprotektor serta antiulcer (Soetan, 2006).

Saat ini ada bermacam-macam obat yang digunakan untuk mengatasi peradangan. Antiinflamasi golongan steroid misalnya dapat menyebabkan penurunan imunitas terhadap infeksi, osteoporosis, atrofi otot dan jaringan lemak, meningkatkan tekanan intra okular, serta bersifat diabetik. Adapun antiinflamasi golongan non- steroid dapat menyebabkan tukak lambung hingga perdarahan, gangguan ginjal, dan anemia (Anonim, 2005).

Maka untuk pengembangan obat tradisional dan dugaan kuat bahwa daun sirih merah memiliki aktivitas antiinflamasi, maka perlu dikembangkan penelitian lebih lanjut. Jika daun sirih merah dapat menghambat volume radang pada tikus yang diinduksi karagenin berarti ada petunjuk bahwa bahan tersebut mempunyai efek antiinflamasi.

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: metanol, simplisia daun sirih merah, tikus putih jantan galur wistar, CMC Na, aquadest, asetosal, dan karagenin.

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: kandang tikus, tempat makanan dan minuman tikus, timbangan, spidol, sonde lambung,

sprit injeksi 1 mL, penghitung waktu (*stop watch*), rotavapour dan pletismometer air raksa.

Jalannya penelitian

Pembuatan ekstrak metanol

Daun sirih merah segar dibersihkan dengan air bersih yang mengalir, dikeringkan dengan diangin-anginkan kemudian diserbuk. Serbuk daun yang telah kering dimaserasi dengan menggunakan metanol sebanyak 7,5 kali berat serbuk selama 24 jam dan diulang 3 kali. Maserat dikumpulkan, kemudian pelarut diuapkan menggunakan rotavapor sehingga diperoleh ekstrak metanol kental. Ekstrak kental dikeringkan dalam oven, sehingga didapatkan ekstrak metanol kering.

Penyiapan bahan uji

- Pembuatan larutan CMC 1 %. Ditimbang 1 gram CMC kemudian disuspensikan dalam aquades sampai 100 mL.
- Pembuatan suspensi Asetosal 1%. Sediaan suspensi asetosal untuk 1 kelompok dibuat dengan mensuspensikan 500 mg asetosal dalam larutan CMC 1% sampai 50 mL.
- Pembuatan suspensi sediaan uji. Sediaan uji dibuat dengan cara menimbang 1g ekstrak kemudian disuspensikan dalam larutan CMC 1% hingga 100mL.
- Pembuatan suspensi karagenin 1%. Karagenin 1% diperoleh dengan mensuspensikan 1g karagenin dalam suspensi CMC 1% sampai 100 mL.

Uji aktivitas antiinflamasi

Tikus dipuasakan selama lebih kurang 18 jam sebelum perlakuan, namun air minum tetap diberikan (*ad libitum*). Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara acak masing masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pada awal penelitian, tiap tikus diberi tanda dengan spidol pada sendi belakang kiri, agar pemasangan kaki dalam air raksa setiap kali selalu sama, kemudian tiap tikus ditimbang. Volume kaki tikus diukur dan dicatat sebagai volume dasar untuk tiap tikus. Masing-masing kelompok diberi perlakuan, yaitu:

1. kelompok kontrol negatif: diberi CMC Na 1% 2 mL/200 kg BB.
2. kelompok kontrol positif: diberi suspensi asetosal 100 mg/kg BB
3. kelompok uji 1: diberi ekstrak daun sirih merah dengan dosis 25 mg/kg BB
4. kelompok uji 2: diberi ekstrak daun sirih merah dengan dosis 50 mg/kg BB

5. kelompok uji 3: diberi ekstrak daun sirih merah dengan dosis 100 mg/kg BB

Tiga puluh menit setelah pemberian obat uji atau larutan kontrol, disuntikkan larutan karagen 1% pada telapak kaki kiri tikus sebanyak 0,05 mL. Penyuntikan karagenin dilakukan secara subplantar. Tiga puluh menit kemudian volume kaki yang disuntik karagen diukur pada alat (pletismometer air raksa) dengan cara mencelupkan telapak kaki kiri tikus ke dalam alat pletismometer air raksa sampai tanda spidol dan dicatat. Pengukuran dilakukan tiap 30 menit selama 3 jam setelah penyuntikan karagenin.

Analisis data

Data yang diperoleh dari pengukuran volume telapak kaki kiri tikus setiap waktu pada semua kelompok ditabulasikan. Tabel memuat persentase kenaikan volume kaki kiri tikus (volume edema) setiap 30 menit (untuk masing-masing tikus). Perhitungan persentase edema dilakukan dengan membandingkannya terhadap volume dasar sebelum penyuntikan karagen.

Selanjutnya untuk melihat efek antiinflamasi dari masing-masing perlakuan dapat dihitung persentase reduksi edema dengan rumus: Persentase reduksi edema:

Hasil yang diperoleh dari perhitungan persentase reduksi edema dianalisis dengan *One way ANOVA*, kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat perbedaan antar perlakuan signifikan ($p < 0,05$) atau tidak signifikan ($p > 0,05$) (Esvandiary *et al.*, 2007).

Skrining fitokimia

Skrining flavonoid

Uji Wilstater

Sebanyak 0.3 g ekstrak daun sirih merah dikocok dengan 5 mL n-heksana berkali-kali sampai ekstrak n-heksana tidak berwarna. Residu dilarutkan dalam etanol dan dibagi menjadi 2 bagian yang disebut sebagai larutan IA dan IB. Larutan IA sebagai blanko. Larutan IB ditambah 0.5 mL HCl pekat dan 4 potong magnesium. Warna yang terjadi diamati, kemudian diencerkan dengan air suling dan ditambah 0.1 mL butanol. Warna yang terjadi di setiap lapisan diamati, perubahan warna merah jingga menunjukkan adanya flavon, merah pucat menunjukkan adanya flavonol dan merah tua menunjukkan flavonon pada daun sirih merah.

KLT

Ekstrak metanol daun sirih merah ditotolkan pada fase diam lempeng KLT silica gel F₂₅₄, dengan fase gerak kloroform:metanol:air (9.7:0.2:0.1). Penampak noda yang digunakan uap amoniak

Skrining polifenol dan tanin

ekstrak daun sirih merah sebanyak 0.3 g ditambah 10 mL aquades panas, diaduk dan dibiarkan sampai suhu kamar, tambahkan 3-4 tetes 10 % NaCl, diaduk dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, yang disebut IIA, IIB, dan IIC. Larutan IIA sebagai blanko.

Uji FeCl₃

Larutan IIB diberi beberapa tetes larutan FeCl₃, kemudian diamati terjadinya perubahan warnanya, jika terjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin. Jika pada penambahan gelatin dan NaCl tidak timbul endapan tetapi setelah ditambahkan dengan larutan FeCl₃ terjadi perubahan warna menjadi hijau biru hingga hitam, menunjukkan adanya senyawa polifenol pada ekstrak daun sirih merah.

Uji gelatin

Larutan IIC ditambah sedikit larutan gelatin 1% dan 5 mL larutan NaCl 10%. Jika terjadi endapan putih menunjukkan adanya tannin pada ekstrak.

KLT

Ekstrak metanol daun sirih merah ditotolkan pada fase diam lempeng KLT silica gel F₂₅₄, dengan fase gerak kloroform:metanol:air (7:3:0.4). Penampak noda yang digunakan FeCl₃. Jika timbul warna biru kehitaman sampai hitam menunjukkan adanya senyawa tannin di dalam ekstrak daun sirih merah.

Skrining alkaloid

Ekstrak metanol daun sirih merah sebanyak 0.3g ditambah dengan 5mL HCl 2N, dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambah 0.3g NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 5mL HCl 2N dan dibagi menjadi 3 bagian IIIA, IIIB, IIIC.

Reaksi Pengendapan

Larutan IIIA ditambah pereaksi Mayer, larutan IIIB ditambah pereaksi Wagner dan larutan IIIC dipakai sebagai blanko. Adanya kekeruhan atau endapan menunjukkan alkaloid dalam ekstrak daun sirih merah.

KLT

Ekstrak metanol daun sirih merah ditotolkan pada fase diam lempeng KLT silica gel F₂₅₄, dengan fase gerak etilasetat:metanol:air (9:2:2). Penampakan noda yang digunakan pereaksi Dragendorff. Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid di dalam ekstrak daun sirih merah.

Skrining saponin, triterpenoid dan steroid uji buih

Ekstrak metanol daun sirih merah sebanyak 0.3g dalam tabung reaksi, ditambah air suling 10mL, dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Tes buih positif mengandung saponin bila terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan tinggi 3cm di atas permukaan cairan.

Uji Salkowski

Dilartutkan 0.3g ekstrak dalam 15mL etanol. Larutan IA ditambah 1-2mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Adanya steroid tak jenuh ditandai dengan timbulnya cincin berwarna merah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak metanol daun sirih merah. Ekstrak kering daun sirih merah yang didapatkan sebanyak 13,5862g, dan nilai rendemen yang didapatkan adalah 13,59%.

Uji aktivitas antiinflamasi dengan metode induksi karagenin merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antiinflamasi yang sederhana, mudah dilakukan dan sering dipakai. Selain itu, pembentukan radang oleh karagenin tidak menyebabkan kerusakan jaringan. Data persentase radang diperoleh dari perbandingan selisih volume kaki tikus pada waktu t dan sebelum perlakuan dengan volume kaki sebelum perlakuan. Kemudian dari data yang didapatkan, dihitung persentasenya. Hasil persentase radang adalah sebagai berikut :

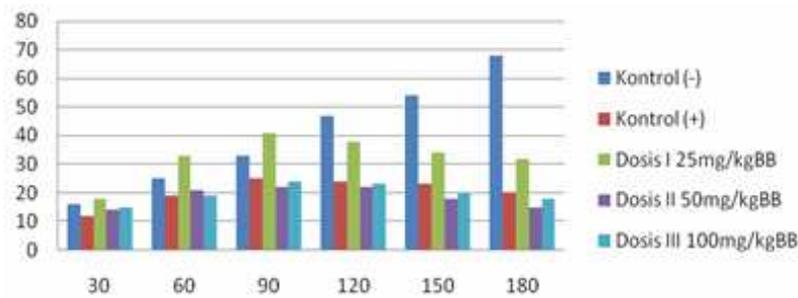
Tampak adanya perbedaan persentase radang antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan beberapa kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif yang diberi CMC Na,

persentase radang meningkat mulai dari menit 30 sampai menit ke-180. Pada kelompok perlakuan dosis 25mg/kgBB, 50mg/kgBB dan 100mg/kgBB, peningkatan persentase radang hanya terjadi mulai menit 30 sampai menit 90. Setelah lebih dari 90 menit mulai mengalami penurunan. Hal ini berkaitan dengan efek maksimal dari senyawa uji tersebut, seperti halnya asetosal, kadar tertinggi dalam tubuh tercapai kira-kira 2 jam setelah pemberian. Sesuai dengan pernyataan Wilmana (1995) bahwa pada pemberian oral, sebagian salisilat diabsorpsi dengan cepat dalam bentuk utuh di lambung, tetapi sebagian besar di usus halus bagian atas. Kadar tertinggi dicapai kira-kira 2 jam setelah pemberian. Pada kelompok perlakuan, rata-rata persen radang ekstrak dosis 25mg/kgBB lebih besar dari persen radang pada kelompok uji yang lain dan juga kelompok kontrol positif. Rata-rata persen radang ekstrak dosis 50mg/kgBB lebih kecil dari persen radang kelompok uji yang lain.

Data rata-rata persentase radang telapak kaki kiri tikus dalam bentuk diagram (Gambar 1).

Selanjutnya juga dapat dihitung rata-rata persentase reduksi radang 3 jam setelah penyuntikan karagenin dari masing-masing perlakuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasinya (Tabel 2).

Dari hasil tersebut terlihat jelas bahwa ekstrak daun sirih merah dosis 50 mg/kg BB memiliki nilai persen reduksi radang yang paling tinggi dari pada perlakuan yang lain, kemudian diikuti oleh ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB. Seharusnya dengan meningkatnya dosis atau konsentrasi, maka aktivitas antiinflamasi akan menunjukkan adanya peningkatan. Tetapi ternyata pada dosis 100 mg/kg BB justru terjadi penurunan aktivitas antiinflamasi. Hal tersebut disebabkan memang terdapat beberapa jenis obat dalam dosis tinggi justru menyebabkan pelepasan histamine secara langsung dari *mast cell* sehingga mengakibatkan pembuluh darah menjadi lebih permeable terhadap cairan plasma dan menimbulkan proses peradangan (terjadi proses imunologi) (Kurniawati, 2005). Maka dimungkinkan pada ekstrak daun sirih merah ini mengandung senyawa yang mampu mengakibatkan hal tersebut. Akan tetapi terdapat simpangan baku yang cukup besar pada data rata-rata persen reduksi radang ekstrak metanol daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB yang mungkin berpengaruh cukup besar pada data yang didapatkan.



Gambar 1. Diagram Rata-rata Persentase Radang telapak Kaki Kiri Tikus.

Tabel I. Data Rata-rata Persentase radang Telapak Kaki Kiri Tikus yang Diinduksi Karagenin

| Waktu (menit) | Persentase Radang (%) | | | | |
|---------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Ekstrak daun sirih merah | | |
| | CMC Na 2 mL/200g BB | Asetosal 100 mg/kgBB | Dosis I 25 mg/kgBB | Dosis II 50 mg/kg BB | Dosis III 100 mg/kg BB |
| 30 | 16.818±5.630 | 12.884±5.440 | 18.180±2.128 | 14.618±4.796 | 15.010±4.432 |
| 60 | 25.492±6.074 | 19.884±4.049 | 33.520±2.974 | 21.174±2.909 | 19.446±4.734 |
| 90 | 33.980±5.129 | 25.704±4.171 | 41.550±3.866 | 22.250±2.770 | 24.678±3.861 |
| 120 | 47.062±10.477 | 24.748±4.684 | 38.904±2.964 | 22.251±2.760 | 23.036±3.281 |
| 150 | 54.870±10.677 | 23.124±4.281 | 34.002±2.179 | 18.850±1.925 | 20.574±4.315 |
| 180 | 68.390±10.138 | 20.390±4.926 | 32.186±3.025 | 15.146±2.080 | 18.116±2.919 |

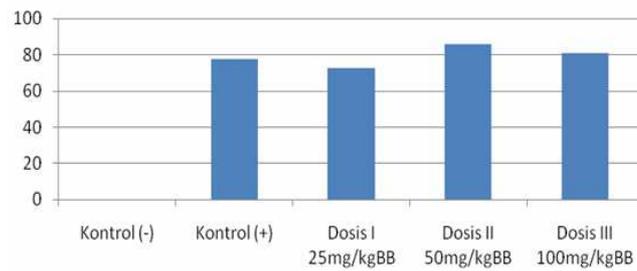
Tabel II. Data Rata-rata Persentase Reduksi Radang pada Telapak Kaki Kiri Tikus 3 Jam Setelah Penyuntikan Karagenin

| Perlakuan | Rata-rata % Reduksi Radang (%) |
|----------------------------|--------------------------------|
| Kontrol negatif (CMC Na) | 00.000±0.0000 |
| Kontrol positif (asetosal) | 77.584±3.2064 |
| Dosis 25 mg/kg BB | 72.372±3.1845 |
| Dosis 50 mg/kg BB | 85.606±0.8360 |
| Dosis 100 mg/kg BB | 81.020±6.2707 |

Berdasarkan penelitian Andayana Puspitasari (dalam Sudewo,2008), daun sirih merah mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid, polifenol, steroid, dan terpenoid, terutama senyawa monoterpen dan kemungkinan adanya komponen minyak atsiri. Aktivitas antiinflamasi ekstrak daun sirih merah diperkirakan karena adanya senyawa golongan flavonoid saponin dan tannin. Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses terjadinya inflamasi melalui dua cara, yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial (Kurniawati, 2005). Sedangkan mekanisme antiinflamasi saponin adalah dengan

menghambat pembentukan eksudat dan menghambat kenaikan permeabilitas vaskular (Pelegri *et al.*, 2008). Selain flavonoid, tannin juga mempunyai aktivitas antiinflamasi, namun mekanisme kerjanya sebagai antiinflamasi belum dijelaskan secara pasti (Khanbabaee dan Ree, 2001).

Flavonoid berperan penting dalam menjaga permeabilitas serta meningkatkan resistensi pembuluh darah kapiler. Oleh karena itu, flavonoid digunakan pada keadaan patologis seperti terjadinya gangguan permeabilitas dinding pembuluh darah. Terjadinya kerusakan pembuluh darah kapiler akibat radang menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler, sehingga darah (terutama plasma darah) akan keluar dari kapiler



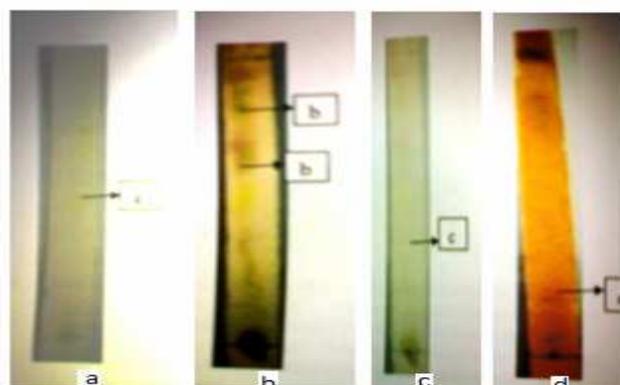
Gambar 2 Histogram Rata-rata Persentase Reduksi Radang



Gambar 3 Uji Wilstater menghasilkan perubahan warna menjadi merah jingga yang menunjukkan adanya flavon dalam ekstrak methanol daun sirih merah.

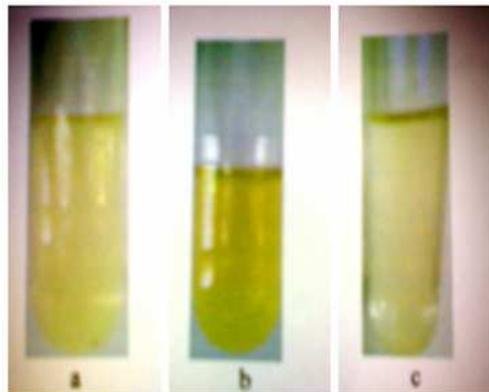


Gambar 4. Uji feriklorida menghasilkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tannin dalam ekstrak methanol daun sirih merah.



Gambar 5. Skrining Fitokimia Ekstrak Methanol Daun Sirih Merah

- Noda pada Rf 0.5 menunjukkan flavonoid
- Noda Rf 0.75 dan 0.875 menunjukkan terpenoid/steroid
- Noda oranye Rf 0.375 menunjukkan alkaloid negatif
- Noda hitam Rf 0.2 menunjukkan adanya tannin



Gambar 6. Foto uji alkaloid terhadap ekstrak metanol daun sirih merah

- a. Penambahan pereaksi Mayer menghasilkan kekeruhan yang menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak daun sirih merah
- b. Penambahan pereaksi wagner menghasilkan kekeruhan yang menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak daun sirih merah
- c. Larutan control



Gambar 7. Uji buih menghasilkan buih stabil yang menunjukkan adanya saponin dalam ekstrak daun sirih merah



Gambar 8. Uji Salkowski menghasilkan cincin merah yang menunjukkan adanya senyawa steroid tak jenuh dalam ekstrak daun sirih merah

jaringan, diikuti dengan terjadinya respon inflamasi. Flavonoid terutama bekerja pada endothelium mikrovaskular untuk mengurangi terjadinya hipermeabilitas dan radang. Beberapa senyawa flavonoid dapat menghambat pelepasan asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari membrane dengan jalan memblok jalur siklooksigenase (Sabir, 2003). Penghambatan jalur siklooksigenase dapat menimbulkan pengaruh lebih luas karena reaksi siklooksigenase merupakan langkah pertama pada jalur yang menuju ke hormon eikosanoid seperti prostaglandin dan tromboksan (Robinson, 1995).

Berdasarkan uji *ANOVA One Way* diperoleh perbedaan yang signifikan dengan $p < 0.05$. Setelah dilanjutkan dengan uji *Least Significant Different (LSD)* perbedaan signifikan terjadi pada kontrol negatif dengan semua kelompok. Pada kelompok asetosal terjadi perbedaan signifikan baik dengan kontrol negatif, kelompok dosis 25 mg/kg BB dan kelompok dosis 50 mg/kg BB. Kelompok dosis 100 mg/kg BB tidak berbeda signifikan dengan kelompok asetosal sebagai kontrol positif.

Hasil skrining menunjukkan pada pemisahan golongan senyawa flavonoid dengan uji Wilstater didapatkan perubahan warna merah

jingga yang menunjukkan adanya senyawa flavon (Gambar 3). Pemisahan senyawa flavonoid secara KLT menggunakan fase diam silica Gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak kloroform:metanol: air (9.7:0.2:0.1). Setelah elusi sempurna timbul 2 bercak noda kuning pucat pada Rf 0.5 dan hijau tua pada Rf 0.7. Akan tetapi, setelah disemprot dengan penampak noda uap amoniak timbul noda warna kuning intensif pada Rf 0.5 sedangkan pada Rf 0.7 tidak terjadi perubahan warna yang menunjukkan bahwa pada Rf 0.5 merupakan senyawa flavonoid (Gambar 5).

Skrining polifenol dan tannin menggunakan pereaksi dengan memanfaatkan sifat tannin yang mengendapkan protein (gelatin). Reaksinya menjadi lebih sensitif dengan penambahan NaCl untuk meningkatkan salting out dari kompleks protein-tannin (Fong, 1973). Ekstrak metanol menunjukkan perubahan warna dari kuning menjadi hijau kehitaman dengan penambahan FeCl₃ seperti pada Gambar 4. Uji gelatin terhadap ekstrak juga menunjukkan reaksi negatif dengan tidak terbentuknya endapan putih di dasar. Hasil positif dari uji FeCl₃ menunjukkan adanya kandungan senyawa tannin dalam ekstrak. Identifikasi senyawa tannin dengan KLT menggunakan eluen kloroform:metanol:air (7:3:0.4) dan terdapat noda pada Rf 0.2 yang berubah warna menjadi hitam setelah diberi penampak noda FeCl₃. Adanya warna hitam tersebut menunjukkan bahwa dalam ekstrak metanol daun sirih merah diduga mengandung tannin (Gambar 5).

Pada skrining alkaloid, dilakukan reaksi pengendapan menggunakan pereaksi Mayer dan Wagner. Dihasilkan kekeruhan dalam tabung reaksi yang menandai adanya alkaloid (Gambar 6). Akan tetapi pada pemeriksaan dengan KLT menggunakan fase gerak etilasetat:metanol:air (9:2:2) dan penampak noda dengan pereaksi Dragendorff tidak timbul warna jingga yang menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak (Gambar 5). Hal ini dimungkinkan karena belum ditemukannya eluen yang dapat memisahkan alkaloid.

Skrining saponin dilakukan berdasarkan sifat khasnya, yaitu akan menghasilkan buih yang stabil selama lebih dari 30 menit diatas permukaan cairan (Fong, 1973)(Gambar 7).

Golongan senyawa steroid dan triterpenoid diidentifikasi dengan uji Salkowski. Pada ekstrak terlihat adanya cincin merah yang menunjukkan adanya senyawa steroid tak jenuh seperti pada gambar 8. Identifikasi senyawa terpenoid dengan

KLT menggunakan fase diam silica Gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak toluene:etilasetat (7:3). Elusi pada ekstrak metanol menghasilkan tiga noda yang terpisah pada Rf 0.375:0.75 dan 0.875.

Setelah disemprot dengan penampak noda anisaldehyd asam sulfat timbul noda berwarna ungu pada Rf tersebut yang menunjukkan adanya senyawa steroid/terpenoid pada ekstrak metanol daun sirih merah (Gambar 5).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa Ekstrak metanol daun sirih merah memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus putih yang diinduksi karagenin

Ekstrak metanol daun sirih merah dosis 25, 50, dan 100 mg/kg BB mampu menurunkan radang sebesar 72.37%, 85.61% dan 81.02%. Terdapat perbedaan aktivitas antiinflamasi antara dosis ekstrak metanol daun sirih merah dosis 25 mg/kg BB dengan ekstrak metanol daun sirih merah dosis 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB. Dan tidak terdapat perbedaan aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol daun sirih merah dosis 50 mg/kg BB dengan 100 mg/kg BB.

Terdapat perbedaan signifikan antara aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol daun sirih merah dosis 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB dengan aktivitas antiinflamasi asetosal. Dan tidak terdapat perbedaan signifikan antara aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol daun sirih merah dosis 100mg/kgBB dengan asetosal.

UCAPAN TERIMA KASIH

DIPA Universitas Jember 2008.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2005. *Hati-hati menggunakan Obat Anti Nyeri*, (http://www.diskesjatim.go.id/berita-detail.html?news_id=90) (24 Mei 2005)
- Arundina, I., Laksminingsih, R., Yuliastuti, W.S. 2003. Efek Antiinflasi Catechin pada Marmut dengan Metode Pembentukan Oedema yang Diinduksi Karagenin. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*, 4 (3): 189-195.
- Esvandary, J., Sekar, M.F., Wijoyo, Y. 2007. *Efek analgetik dan Efek Anti Inflamasi Beta Karoten pada Mencit*.
- Fong, H.S., Tin Wa, M., Farnsworth, N.R., 1973, *Phytochemical Screening*, Chicago: Department of Pharmacognosy &

- Pharmacology, College of Pharmacy,
University of Illinois
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellog, E.A. &
Donoghue, M.J. (2002): *Plant Systematics: a
Phylogenetic Approach*, Sinauer,
Sunderland, Mass
- Kamienski, M., Keogh, J., 2006, *Pharmacology
Demystified: a Self-Teaching Guide*, New
York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Khanbabaee, K. dan Ree, T. V. 2001. Tannins:
Classification and Definition. *Nat Prod Rep*,
18: 641-649.
- Kurniawati, A. 2005. Uji Aktivitas Anti Inflamasi
Ekstrak Metanol *Graptophyllum griff* pada
Tikus Putih. *Majalah Kedokteran Gigi Edisi
Khusus Temu Ilmiah Nasional IV*, 11-13
Agustus 2005: 167-170.
- Mycek, M.J., R.A. Harvey dan P.C. Champe. 2001.
Farmakologi Ulasan Bergambar. Edisi 2.
Jakarta: Widya Medika.